

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2002 年 3 月 14 日 (14.03.2002)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 02/20470 A1

(51) 国際特許分類: C07C 271/20,  
269/06, C07K 14/00, B01J 39/04, 39/06

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/07696

(22) 国際出願日: 2001 年 9 月 5 日 (05.09.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2000-268638 2000 年 9 月 5 日 (05.09.2000) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): アプ  
ライドバイオシステムズ ジャパン株式会社 (APPLIED  
BIOSYSTEMS JAPAN LTD.) [JP/JP]; 〒104-0032 東京  
都中央区八丁堀4丁目5番4号 秀和桜橋ビル Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 池田 壽文 (IKEDA,  
Hisafumi) [JP/JP]; 〒270-0115 千葉県流山市江戸川台

西3丁目31番地1号 エステート江戸川台8棟307号 Chiba  
(JP). 齋藤 烈 (SAITO, Isao) [JP/JP]; 〒607-8242 京都  
府京都市山科区勤修寺柴山1-21 Kyoto (JP). 中村有伸  
(NAKAMURA, Yushin) [JP/JP]; 〒277-0041 千葉県柏  
市逆井藤ノ台13番地5号 Chiba (JP).

(74) 代理人: 弁理士 葛和清司, 外(KUZUWA, Kiyoshi et  
al.); 〒160-0003 東京都新宿区本塩町19番地 AOIビル  
葛和国際特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): JP, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,  
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

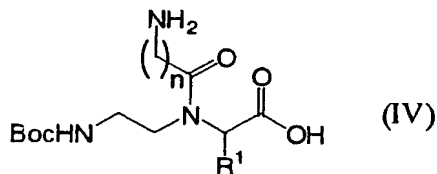
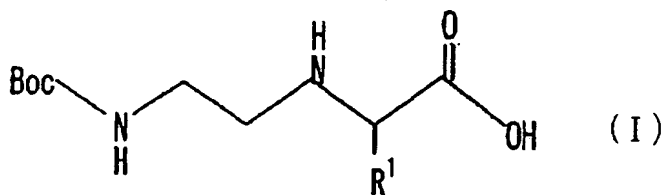
添付公開書類:

— 国際調査報告書  
— 補正書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: T-BUTOXYCARBONYLAMINOETHYLAMINE FOR THE SYNTHESIS OF PNA MONOMER UNITS, AMINO  
ACID DERIVATIVES, INTERMEDIATES THEREOF, AND PROCESSES FOR PRODUCTIONS OF THEM

(54) 発明の名称: PNAモノマーユニット合成のためのt-ブトキシカルボニルアミノエチルアミン、アミノ酸誘導体  
およびその中間体並びにそれらの製造方法



(57) Abstract: The invention aims at providing  
processes for the production of amino acid derivatives of  
the general formula (I) and t-butoxycarbonylaminoethyl-  
amine being an intermediate for the production of  
the derivatives (I), which can attain high yield without  
troublesome operation and are easily applicable to mass  
production; novel amino acid derivatives of the general  
formula (IV) and intermediates for the synthesis of the  
same; and processes for the production of the derivatives  
(IV) and the intermediates. That is, the invention relates  
to a process for the production of amino acid derivatives  
of the general formula (I) which comprises the step of  
hydrolyzing an alkyl ester of an amino acid derivative (I);  
amino acid derivatives of the general formula (IV); and  
a process for the production of amino acid derivatives  
(IV), characterized by comprising the step of reducing a

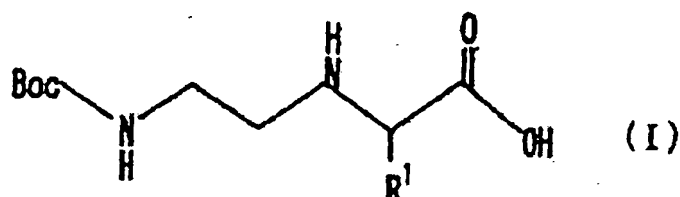
benzyloxycarbonyl-?-amino acid derivative. (IV) In the formulae, R<sup>1</sup> is hydrogen or C<sub>1-5</sub> alkyl; and R<sup>2</sup> is C<sub>1-4</sub> alkyl.

[続葉有]

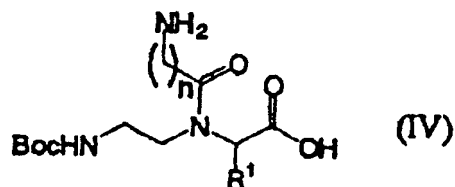


(57) 要約:

煩雑な操作を要さないとともに収率が良く、かつ大量生産への応用が容易な、式 I のアミノ酸誘導体およびその合成中間体である t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンの製造方法の提供、ならびに、新規な式 (IV) のアミノ酸誘導体、その合成中間体およびそれらの製造方法の提供を目的とした、下記一般式 (I)



(式中、R<sup>1</sup>は水素原子又は炭素数 1 ～ 5 のアルキル基を意味する。) で示されるアミノ酸誘導体を、そのアルキルエステルの加水分解により得る行程を含む、前記製造方法、ならびに、一般式 (IV)



(式中、R<sup>1</sup>は前記の通り、R<sup>2</sup>は炭素数 1 ～ 4 のアルキル基を意味する。) で示されるアミノ酸誘導体、およびベンジルオキシカルボニル-ω-アミノ酸誘導体の還元行程を含むことを特徴とする、前記アミノ酸誘導体の製造方法。

## 明 細 書

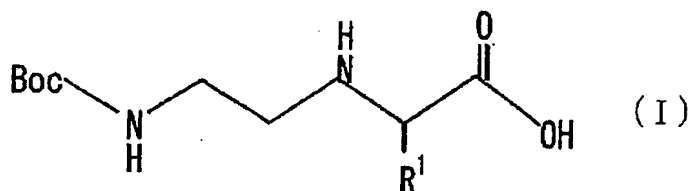
PNAモノマーユニット合成のための $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミン、アミノ酸誘導体およびその中間体並びにそれらの製造方法

## 技術分野

本発明は、アミノ酸誘導体およびその合成中間体である $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンの製造方法に関し、より詳しくは、Boc型PNAを合成するためのモノマーユニットやBoc型機能性分子導入アミノ酸誘導体等を合成する際の塩基、機能性分子導入用基体として好適に用いられるアミノ酸誘導体およびその合成中間体である $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンの製造方法に関する。

## 背景技術

下式 (I)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。以下、同じ。)で示されるアミノ酸誘導体は、Boc型PNAを合成するためのモノマーユニットやBoc型機能性分子導入アミノ酸誘導体等を合成する際の塩基、機能性分子導入用基体として多岐に渡る用途を有する。

特に、PNA (Peptide Nucleic Acid; ペプチド核酸) は、図1に示すように、DNA等の天然の核酸の糖リン酸骨格をN-(2-aminoethyl) glycine骨格に変換した構造を有し、天然の核酸に比べて二重鎖形成能および塩基配列認識能が高く、さらに生体内ヌクレアーゼやプロテアーゼに安定であるため、アンチセンス分子として遺伝子治療への応用が検討されており、近年注目を集めている。PNAの上

記の特徴は、天然の核酸の糖リン酸骨格が中性条件で負電荷を有するため、相補鎖間で静電的な反発が生じるのに対し、電荷を有さない N-(2-aminoethyl) glycine 骨格を有する PNA においては、相補鎖間で静電的な反発が生じないことによる。

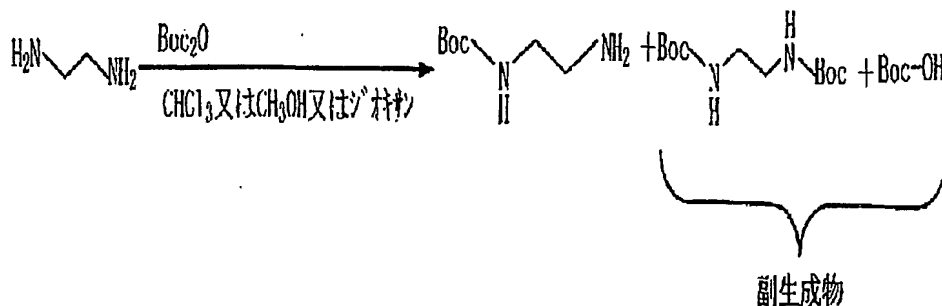
PNA の合成は、DNA または RNA を構成する 4 種の塩基 (A、T (U)、C および G) のいずれかを導入したアミノ酸 (特にグリシン) 誘導体 (モノマーユニット) を、目的とする塩基配列に従って、通常の固相ペプチド合成法を用いて順次結合していくことにより行われる。PNA を合成するためのモノマーユニットには、図 2 (B は塩基を表す。) に示すように、Fmoc 型と Boc 型の 2 種があるが、モノマーユニットの合成方法が確立されており、PNA オリゴマーを合成するのに一般的な DNA 自動合成機を利用することができる Fmoc 型の使用が現在主流となっている。しかしながら、Boc 型モノマーユニットを使用して PNA を合成する場合には、Fmoc 型を用いる場合とは異なる塩基性条件に不安定な機能性分子を PNA に導入できるという利点があるため、Boc 型モノマーユニットを使用した PNA 合成法の確立が急務となっている。

Boc 型モノマーユニットを使用した PNA 合成法の確立を妨げる障害の一つとして、塩基を導入する前のモノマーユニット、すなわち塩基導入用基体として用いる式 I で示される Boc 型アミノ酸誘導体の簡便かつ安価な合成法が確立されていないことが挙げられる。また、式 I のアミノ酸誘導体は、塩基の代わりに他の機能性分子を導入するための機能性分子導入用基体としても用途を有するため、その簡便かつ安価な合成法が確立されれば、機能性分子導入アミノ酸誘導体の合成も容易になる。

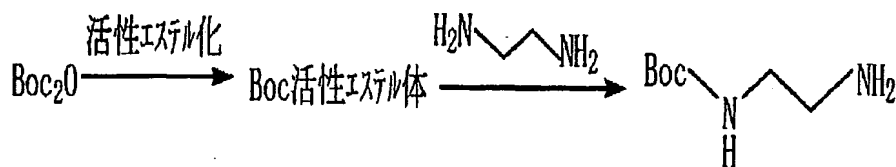
式 I のアミノ酸誘導体の合成法は、通常、エチレンジアミンを出発物質とし、その一方の窒素原子に t-ブトキシカルボニル基 (Boc) を導入する工程と、他方の窒素原子に  $-CH(R^1)-COOH$  を導入する工程を含む。

エチレンジアミンの一方の窒素原子に Boc を導入して t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを得る方法としては、例えば①エチレンジアミンに無水 t-ブトキシカルボン酸を、クロロホルム、メタノール、ジオキサン等の反応溶媒中で直接反応させる方法 (J. Med. Chem., 38(22), 4433-8; 1995、Bull. Korean Chem.

Soc., 15(12), 1025-7; 1994、Eur. J. Med. Chem., 26(9), 915-20; 1991、Synth. Commun., 20(16), 2559-64; 1990、Aust. J. Chem., 39(3), 447-55; 1986)、

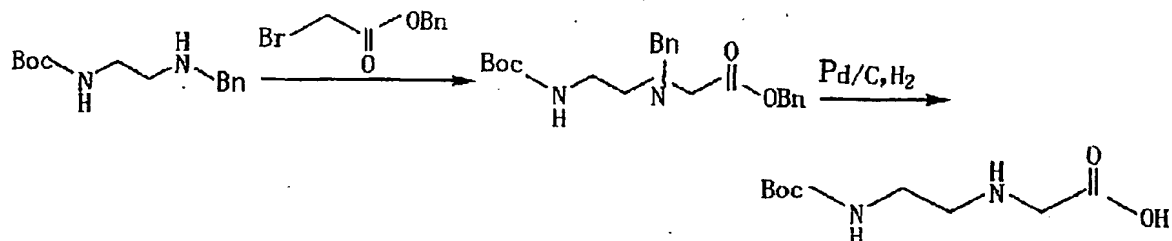


および、②無水 *t*-ブトキシカルボン酸を活性エステル体に変換し、次いでエチレンジアミンと反応させる方法（特開平 11-012234 号公報）



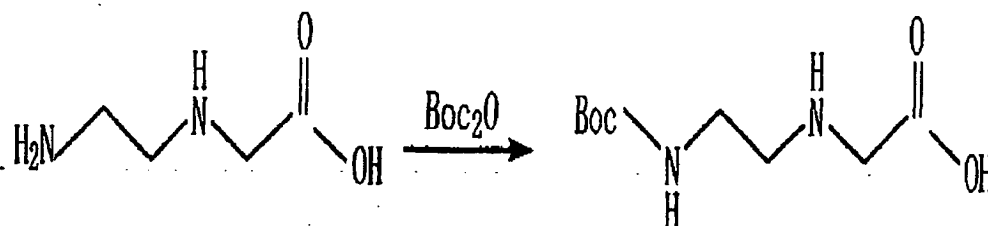
が報告されている。

また、*t*-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンに  $-\text{CHR}^1-\text{COOH}$  を導入して式 I のアミノ酸誘導体を得る方法としては、*t*-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンの保護されていない窒素原子にベンジル基を導入し、③プロモ酢酸ベンジルエステルと反応させた後、接触還元する方法が報告されている（J. Org. Chem., 62(2), 411-416; 1997）。



さらに、一方の窒素原子に  $-\text{CHR}^1-\text{COOH}$  を導入したエチレンジアミン

誘導体の他方の窒素原子にBocを導入して式Iのアミノ酸誘導体を得る方法として、④N-(2-アミノエチル)グリシンに無水t-ブトキシカルボン酸を反応させる方法が報告されている(Heimer, E. P.; Gallo-Torres, H. E.; Felix, A. M.; Ahmad, M.; Lambros, T. J.; Scheidl, F.; Meienhofer, J., Int. J. Pept. Protein Res. 23 (2), 203-211, 1984)。



しかしながら、t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを製造する方法として、①の方法では、比較的収率良く目的物を得ることができるものの、ジ- (t-ブトキシカルボニルアミノ) エチレンとt-ブトキシカルボン酸が副生成物として生じ、クロロホルム、メタノール、ジオキサン等の反応溶媒中に存在する。そのため、分配抽出操作や分配クロマトグラフィーが必要となり、t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを効率よく大量かつ安価に製造するのは困難である。

また、②の方法は、副生成物としてジ- (t-ブトキシカルボニルアミノ) エチレンが生じないという利点を有するものの、多段階反応であるため約60%と総収率が低く、また、用いた試薬を分配クロマトグラフィーにより除去しなければならないため、①の方法と同様に、t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを効率よく大量かつ安価に製造するのは困難である。

したがって、①および②の方法とも、t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを工業的に製造する方法としては適さないものである。

また、t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンから式Iのアミノ酸誘導体を得る方法として、③の方法は、多段階反応であること、また、分液抽出操作が必要であることにより、工業的な製造には適さない。

さらに、式Iのアミノ酸誘導体を得る方法として、④の方法は、分配クロマト

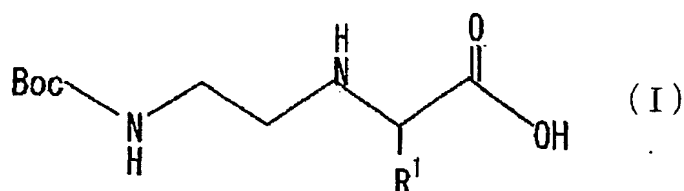
グラフィーによる精製が不要であるという利点はあるものの、収率が60%前後と低く、工業的な製造には適さない。すなわち、式Iのアミノ酸誘導体合成の効率の低さなどに起因して、光機能性PNA分子を得る効率的な方法は確立されていない。したがって、式Iのアミノ酸誘導体を効率よく得る方法、および式Iのアミノ酸誘導体を用いた場合より高効率な光機能性PNA分子の合成を可能にするアミノ酸誘導体の開発が求められている。

### 発明の開示

本発明はかかる状況に鑑みてなされたものであり、その目的とするところは、煩雑な操作を要さないとともに収率が良く、かつ大量生産への応用が容易な、式Iのアミノ酸誘導体およびその合成中間体であるトートキシカルボニルアミノエチルアミンの製造方法を提供すること、ならびに、式IVで示される、新規なアミノ酸誘導体、その合成中間体およびそれらの製造方法を提供することにある。

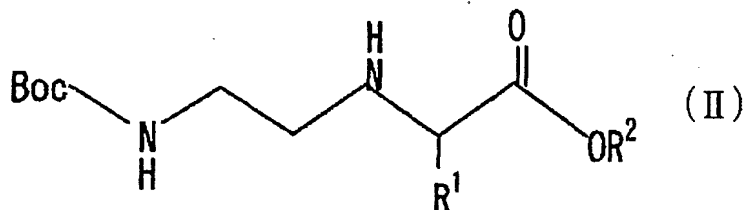
本発明者らは、前記の課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、その解決手段を見出し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、下記一般式(I)



(式中、R<sup>1</sup>は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)

で示されるアミノ酸誘導体の製造方法であって、下記一般式(II)



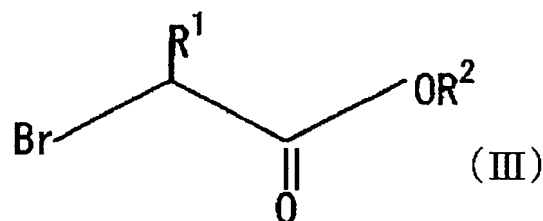
(式中、 $R^1$ は前記と同様の意味を有し、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)で示される化合物を加水分解することにより一般式(I)で示されるアミノ酸誘導体を得る工程を含む、前記製造方法に関する。

また、本発明は、一般式(II)で示される化合物の加水分解が、水酸化アルカリ金属塩水溶液によってなされることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

さらに本発明は、カウンターカチオンとしてピリジニウムイオンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィーにてアルカリ金属イオンを除去する工程をさらに含むことを特徴とする、前記の製造方法に関する。

またさらに、本発明は、アルカリ金属が、リチウム、ナトリウムまたはカリウムであることを特徴する、前記の製造方法に関する。

また本発明は、一般式(II)で示される化合物が、 $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンと下記一般式(III)



(式中、 $R^1$ および $R^2$ は前記と同様の意味を有する。)で示される化合物との反応により得られたものであることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

そして本発明は、 $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンが、エチレンジアミンと無水 $\alpha$ -ブトキシカルボン酸との反応により得られたものであることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

そしてさらに、本発明は、エチレンジアミンと無水 $\alpha$ -ブトキシカルボン酸との反応が、テトラヒドロフラン中でなされることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

また、本発明は、一般式(I)、(II)および(III)で示される化合



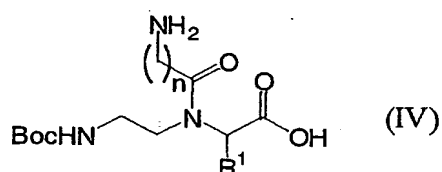
物において、 $R^1$ が水素原子であり、 $R^2$ がエチル基であることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

さらに本発明は、一般式（I）で示されるアミノ酸誘導体がBoc型PNAモノマーユニット合成のための塩基導入用基体であることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

またさらに本発明は、前記の製造方法の、Boc型PNAモノマーユニットの製造における使用に関する。

さらに本発明は、 $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンの製造方法であって、エチレンジアミンと無水 $\alpha$ -ブトキシカルボン酸とをテトラヒドロフラン中で反応させることを特徴とする、前記製造方法に関する。

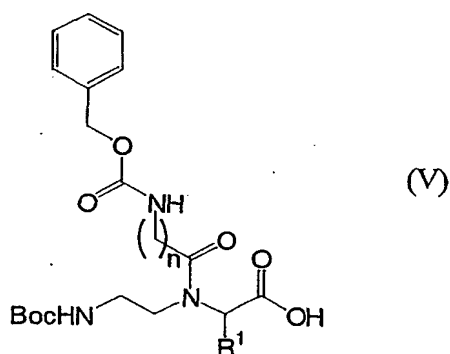
また、本発明は、一般式（IV）



（式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。）

で示される、アミノ酸誘導体に関する。

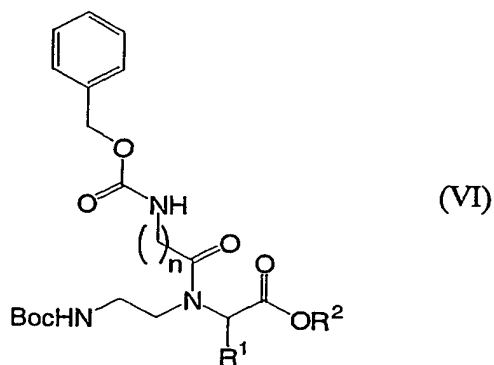
さらに、本発明は、一般式（V）



（式中、 $R^1$ および $n$ は、前記と同様の意味を有する。）

で示される、前記一般式（IV）で示されるアミノ酸誘導体の中間体に関する。

また、本発明は、一般式（VI）



(式中、 $R^1$ および $n$ は、前記と同様の意味を有し、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)

で示される、前記一般式 (IV) で示されるアミノ酸誘導体の中間体に関する。

さらに、本発明は、一般式 (IV) で示されるアミノ酸誘導体の製造方法であって、一般式 (V) で示される化合物を得る工程を含む、前記製造方法に関する。

また、本発明は、一般式 (V) で示される化合物の還元が、触媒としてパラジウムカーボンを含むメタノール溶液中で行われることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

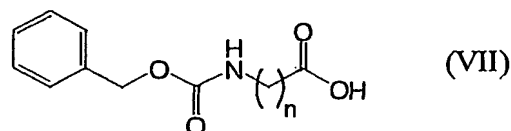
さらに、本発明は、一般式 (VI) で示される化合物を加水分解することによって、式 (V) で示される化合物を得る工程をさらに含むことを特徴とする、前記の製造方法に関する。

また、本発明は、一般式 (VI) で示される化合物の加水分解が、水酸化アルカリ金属塩水溶液によってなされることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

さらにまた、本発明は、カウンターカチオンとしてピリジニウムイオンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィーにてアルカリ金属イオンを除去する工程をさらに含むことを特徴とする、前記の製造方法に関する。

またさらに、本発明は、アルカリ金属が、リチウム、ナトリウムまたはカリウムであることを特徴する、前記の製造方法に関する。

そして、本発明は、一般式 (VI) で示される化合物が、下記一般式 (VII)



(式中、nは前記と同様の意味を有する。)

で示されるベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸および一般式 (I I) で示される化合物との反応により得られたものであることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

そして、本発明は、一般式 (I I) および (I V) ~ (V I I) のいずれかで示される化合物において、 $R^1$ が水素原子であり、 $R^2$ がエチル基であり、nが1であることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

そしてさらに、本発明は、一般式 (I V) で示されるアミノ酸誘導体が、Boc型PNAモノマーユニット合成のための塩基導入用基体であることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

さらに、本発明は、一般式 (I I) で示される化合物が、エチレンジアミンから製造された4-ベンゾトキシカルボニルアミノエチルアミンと一般式 (I I I) で示される化合物との反応により得られたものであることを特徴とする、前記の製造方法に関する。

また、本発明は、一般式 (V) で示される化合物の製造方法であって、一般式 (V I) で示される化合物を加水分解することによって、一般式 (V) で示される化合物を得る工程を含むことを特徴とする、前記製造方法に関する。

また、本発明は、一般式 (V I) で示される化合物の製造方法であって、一般式 (V I I) で示されるベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸および一般式 (I I) で示される化合物との反応によって、一般式 (V I) で示される化合物を得る工程を含むことを特徴とする、前記製造方法に関する。

さらにまた、本発明は、前記一般式 (I V) で示される化合物の、Boc型PNAモノマーユニットの製造における使用に関する。

またさらに、本発明は、前記一般式 (V) で示される化合物の、Boc型PNAモノマーユニットの製造における使用に関する。

そして、本発明は、前記一般式 (V I) で示される化合物の、Boc型PNA

モノマーユニットの製造における使用に関する。

一般式 (I V) で示される化合物には予めリンカーが結合しているため汎用性に富んでおり、活性エステル体を当該化合物と反応させることによって、1工程で目的とするPNAモノマーユニットが得られる。したがって、本発明による式 (I V) で示される化合物によれば、従来法より少ない合成工程数によって光機能性分子をPNAモノマーユニット化することもできるため、当該化合物は比較的高価な光機能性分子を対象とする場合にとくに有効である。

一方、スルホン酸クロリド系および立体障害が大きい光機能性分子等のPNAモノマー化は、一般式 (I) で示される化合物を用いることによって行われる。したがって、本発明によれば、多種多様な機能性PNAモノマーを合成することができる。

#### 図面の簡単な説明

図1-1は天然の核酸と、図1-2はペプチド核酸の構造を比較して示す説明図である。

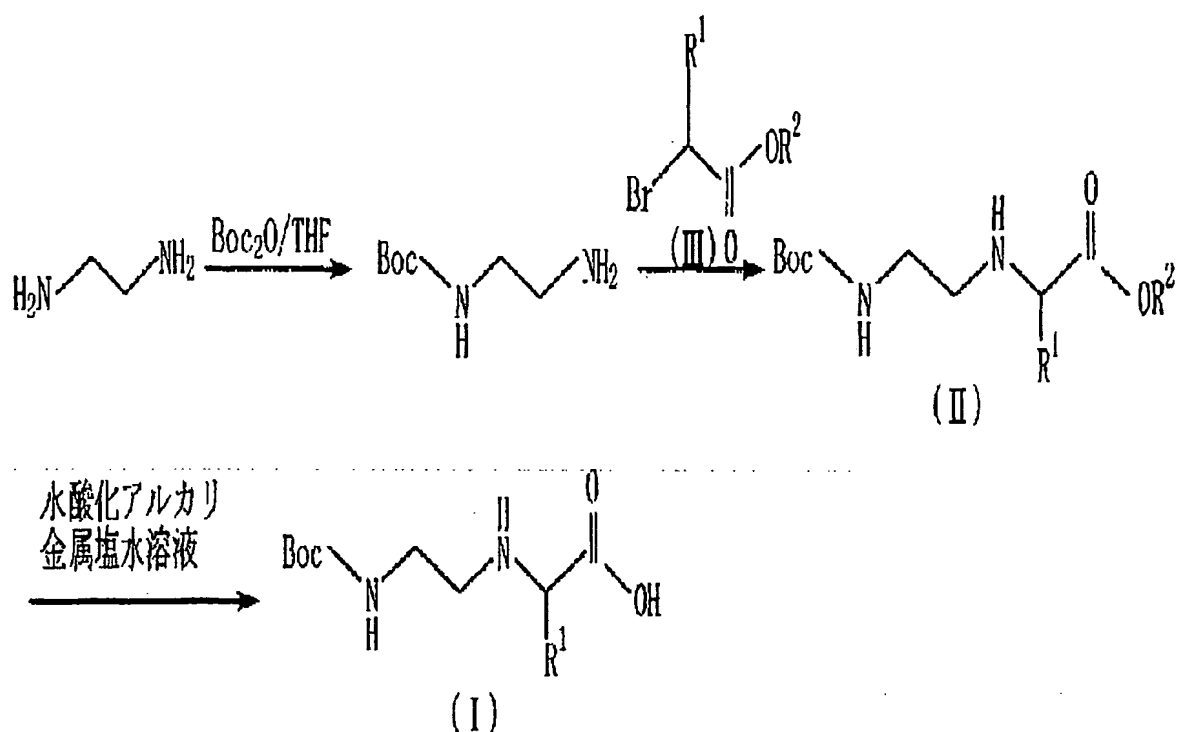
図2は、Fmoc型およびBoc型モノマーユニットを比較して示す説明図である。

それぞれの図において、1は糖リン酸骨格を、2はN-(2-aminoethyl) glycine骨格をそれぞれ示す。

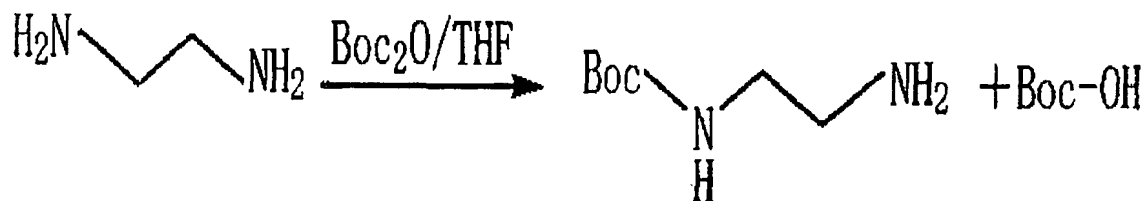
#### 発明を実施するための形態

以下に本発明の実施の態様をさらに詳細に記述する。

本発明においては、以下に示す工程にて、式 (I) で示されるアミノ酸誘導体を製造する。



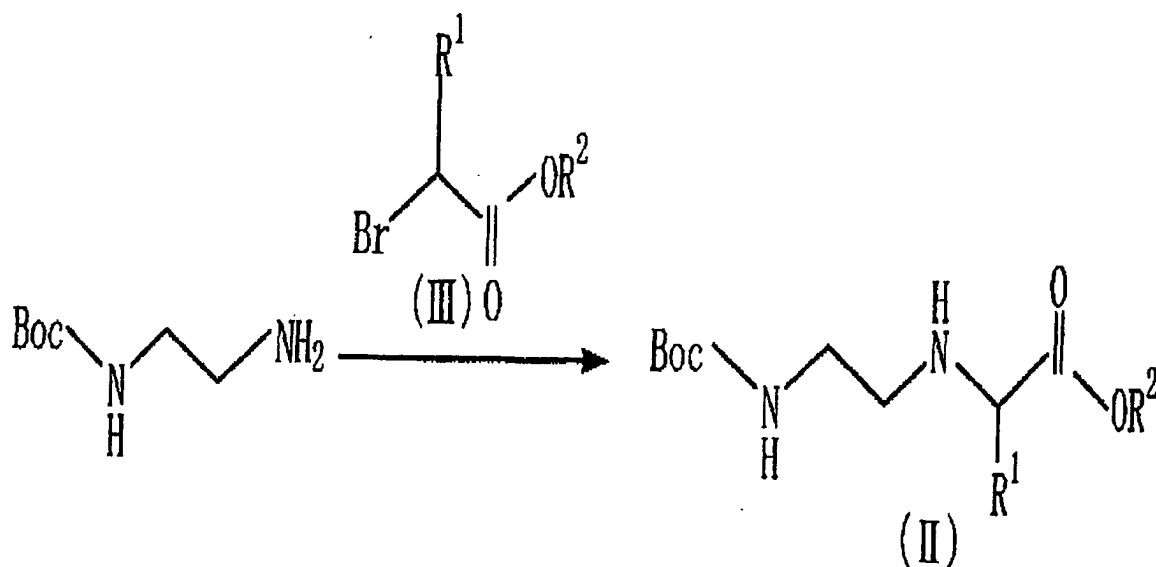
最初の工程は、エチレンジアミンに無水 $\alpha$ -ブトキシカルボン酸を、テトラヒドロフラン (THF) を溶媒として使用して、試薬を用いることなく直接反応させ、 $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを製造する工程である。



THFを溶媒として用いることにより、ジ- $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチレンを副生成物として生じることなく、98%という高収率で $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを得ることができる。副生成物として生じる $\alpha$ -ブトキシカルボン酸は、大過剰に存在するエチレンジアミンと、THFに不溶の塩を形成して反応系から除外されるため、分配クロマトグラフィーによる精製は不要である。

したがって、高収率で簡易に  $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを製造することができ、さらに、分配クロマトグラフィーによる精製が不要であるため、大量生産への応用が容易である。さらに、過剰に存在するエチレンジアミンおよび溶媒として用いた THF は、精留後、再使用できるため、資源を有効に活用しつつ、生産コストの低減を図ることができる。尚、上記の反応において、反応条件は窒素気流下、室温であることが好ましい。

次の工程は、 $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンと、式 (III) で示されるエステル体との反応により一般式 (I) で示される化合物を製造する工程である。

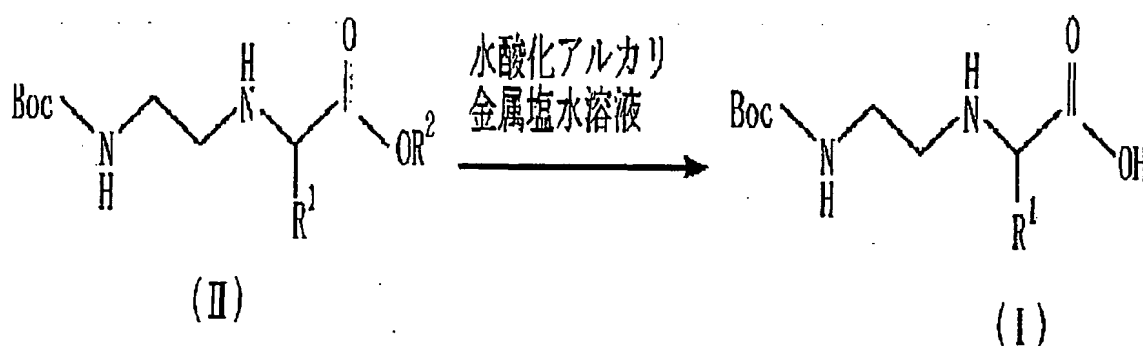


上記の反応において、溶媒はクロロホルムおよび THF 等を用いることができるが、塩化メチレンを用いることが好ましい。また、触媒としては、3級アミン、とくにトリエチルアミンおよびジイソプロピルエチルアミン等を好適に用いることができる。反応条件は、窒素気流下室温とすることが好ましい。

式 (III) で示されるエステル体の  $\text{R}^1$  の種類により、最終生成物である式 (I) で示されるアミノ酸誘導体がいずれのアミノ酸の誘導体となるかが決まるが、 $\text{R}^1$  の種類によっては立体障害により上記の反応の収率が低下する。したがって、 $\text{R}^1$  は好ましくは水素または炭素数 1~5、より好ましくは水素または炭

素数 1～4 の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基であり、さらに好ましくは水素、メチル基またはエチル基である。また、 $R^2$  は、次反応で加水分解を行うという理由により、炭素数 1～4 の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基であることが好ましいが、より好ましくはメチル基、エチル基、*n*-プロピル基またはイソプロピル基であり、さらに好ましくはエチル基である。

次の工程は、式 (II) で示される化合物を加水分解することにより式 (I) で示されるアミノ酸誘導体を製造する工程である。



加水分解は、水酸化アルカリ金属塩水溶液にて行うことが好ましい。アルカリ金属としては、リチウム、ナトリウムまたはカリウムが好ましく、ナトリウムがとくに好ましい。また、加水分解の条件は、氷冷下または室温とすることが好ましい。

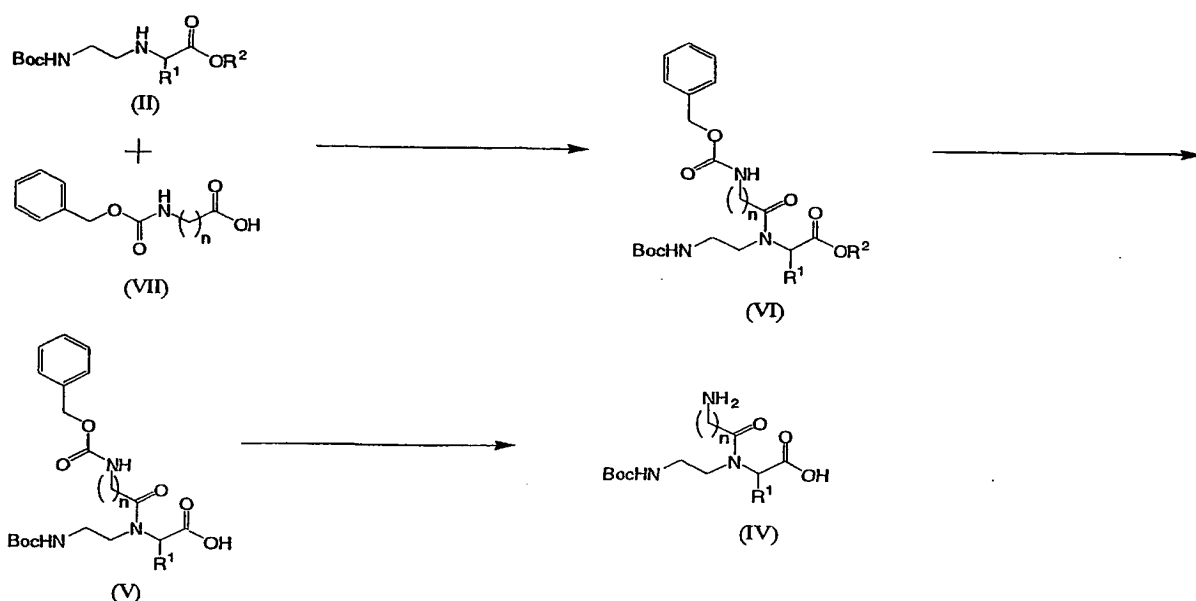
上記反応により、式 (I) で示されるアミノ酸誘導体はナトリウム塩の形で得られるが、ナトリウムイオンは陽イオン交換クロマトグラフィーで容易に除くことができる。尚、 $\alpha$ -ブトキシカルボニル基は陽イオン交換樹脂に不安定であるため、収率低下を防ぐ観点より、カウンターカチオンとして、プロトンの代わりにピリジニウムイオンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィーにてアルカリ金属イオンを除去することが好ましい。

この工程は、加水分解という簡易な一段階反応であり、かつ大量生産への適用が困難なカラムクロマトグラフィーによる精製を要しないため、高収率で式 (I) で示されるアミノ酸誘導体を製造することができ、さらに工業的生産への

応用が容易である。

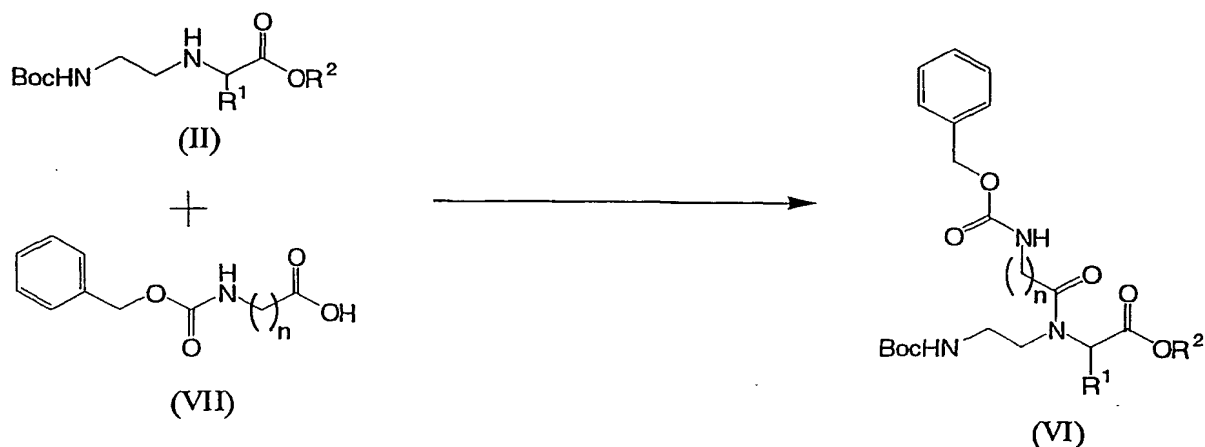
本発明の  $\omega$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンおよびアミノ酸誘導体の製造方法は、アルカリ条件を使用しないものである。一方、核酸を構成する塩基を除く機能性分子にはアルカリ条件に不安定なものが多い。したがって、本発明の製造方法は、機能性分子導入用基体として使用する目的でアミノ酸誘導体を製造する場合にも好適に用いられる。

本発明の式 (I V) で示されるアミノ酸誘導体は、前記一般式 (I I) で示される化合物を用いて、以下に示す工程によって製造される。



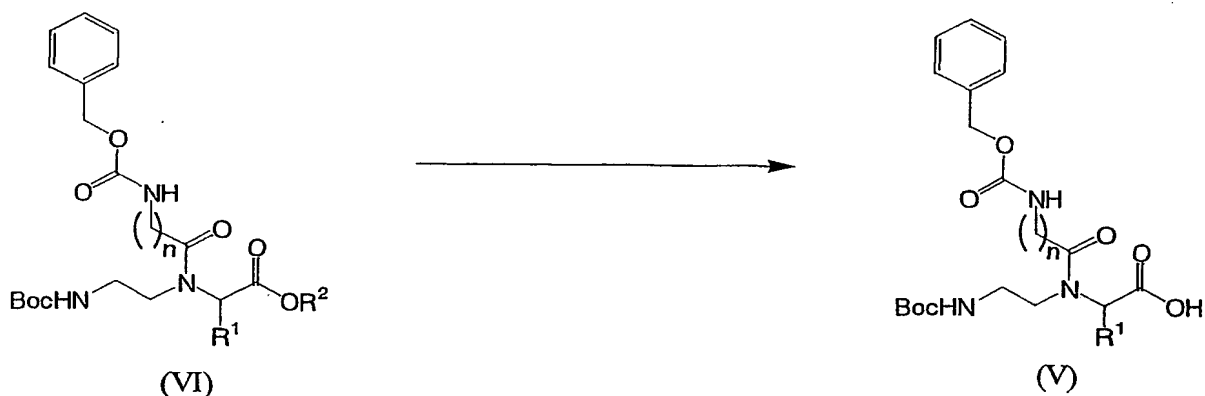
第一の工程は、下記のように、一般式 (I I) で示される化合物<sup>B<sup>0</sup></sup> PNA-OR<sup>2</sup>に一般式 (V I I) で示されるベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸を、ジメチルホルムアミド (DMF) などを溶媒として使用し、トリエチルアミンを用いて反応させ、一般式 (V I) で示されるベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸-<sup>B<sup>0</sup></sup> PNA-OR<sup>2</sup>を製造する工程である。





溶媒DMF、化合物(II)(VII)及びEDCI由来生成物はすべて分液操作によって目的物(VI)と分離可能である。理論的には目的物(VI)のみが有機層に残るのでカラムによる精製を必要としないが、念のため精製した。この方法により定量的に目的物を得ることができた。

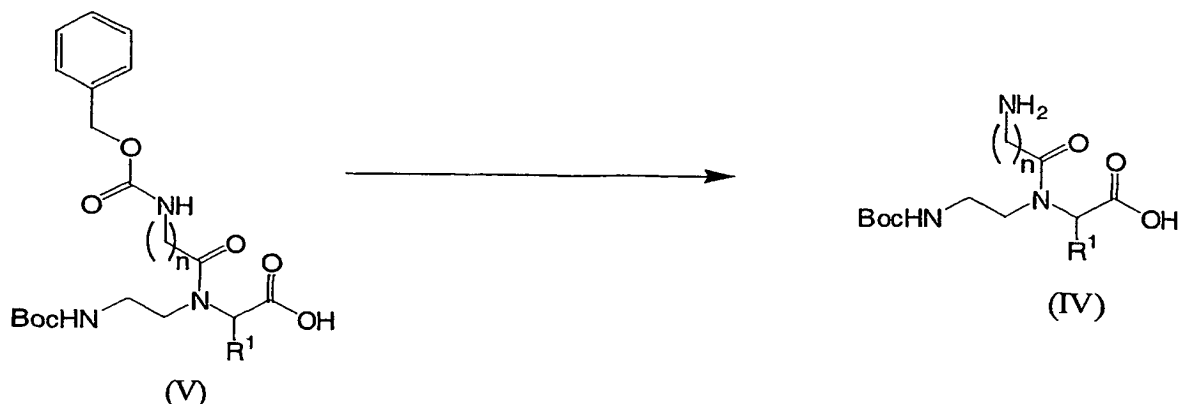
次の工程は、一般式(VI)で示されるベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸- $\text{B}^\circ\text{PNA}-\text{OR}^2$ を加水分解することによって、一般式(V)で示されるベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸- $\text{B}^\circ\text{PNA}-\text{OH}$ を製造する工程である。



加水分解は、水酸化アリカリ金属塩水溶液にて行うことが好ましい。アルカリ金属としては、リチウム、ナトリウム又はカリウムが好ましく、ナトリウムがとくに好ましい。また、加水分解の条件は、氷冷下又は室温とすることが好ましい。

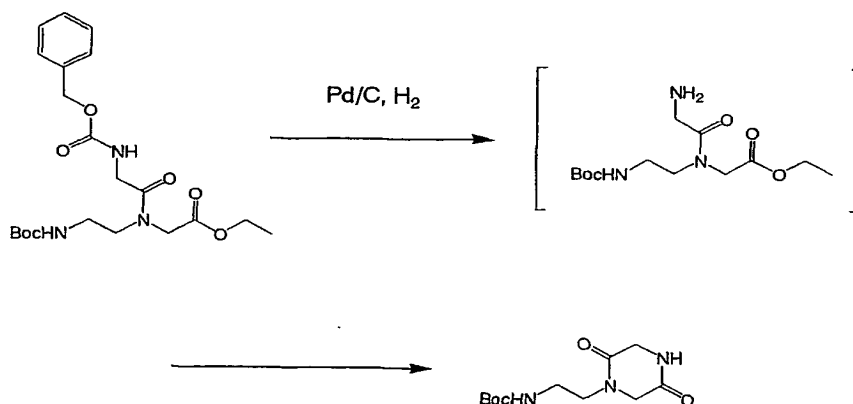
続いて、最終工程である、一般式(V)で示される化合物を還元することによ

って一般式 (IV) で示される化合物を得る工程が行われる。



この工程は、触媒としてパラジウムカーボンを含むメタノール溶液中において好適に行われる。

化合物 (VI) から (IV) を合成する方法としては、(V) を経由する方法が唯一の方法である。例えば下図のように (VI) を先に接触還元すると、中間体を経て環状化合物になってしまう。



上記反応により、式 (IV) で示されるアミノ酸誘導体はナトリウム塩の形で得られるが、ナトリウムイオンは陽イオン交換クロマトグラフィーで容易に除くことができる。なお、tert-ブトキシカルボニル基は陽イオン交換樹脂に不安定であるため、収率低下を防ぐ観点より、カウンターカチオンとして、プロトンの代わりにピリジニウムイオンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィーにてアルカリ金属イオンを除去することが好ましい。

この工程は、加水分解という簡易な一段階反応であり、かつ大量生産への適用が困難なカラムクロマトグラフィーによる精製を要しないため、高収率で式 (I

V) で示されるアミノ酸誘導体を製造することができ、さらに工業的生産への応用が容易である。

本発明のアミノ酸誘導体の製造方法は、アルカリ条件を使用しないものである。一方、核酸を構成する塩基を除く機能性分子にはアルカリ条件に不安定なものが多い。したがって、本発明の製造方法は、機能性分子導入用基体として使用する目的でアミノ酸誘導体を製造する場合にも好適に用いられる。

式 (VI) で示されるエステル体の  $R^1$  の種類および  $n$  の値により、最終生成物である式 (IV) で示されるアミノ酸誘導体がいずれのアミノ酸の誘導体となるかが決まる。

$R^1$  の種類によっては立体障害により上記の反応の収率が低下する。したがって、 $R^1$  は好ましくは水素又は炭素数 1～5、より好ましくは水素又は炭素数 1～4 の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基であり、さらに好ましくは水素、メチル基又はエチル基である。また、 $R^2$  は、次反応で加水分解を行うという理由により、炭素数 1～4 の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基であることが好ましいが、より好ましくはメチル基、エチル基、 $n$ -プロピル基又はイソプロピル基であり、さらに好ましくはエチル基である。

また、 $n$  が異なる一般式 (IV) を合成するためには、対応するベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸を用いればよい。一般的には、 $n = 1 \sim 11$  までのベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸が市販されているので容易に入手可能である。それらの名称は、以下に示すとおりである。

n	上段：一般名 下段：示性式
n = 1	N-Benzylloxycarbonylglycine Z-NH-CH <sub>2</sub> -COOH
n = 2	N-Benzylloxycarbonyl-β-alanine Z-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -COOH
n = 3	N-Benzylloxycarbonyl-4-aminobutanoic Acid Z-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -COOH
n = 4	N-Benzylloxycarbonyl-5-aminopentanoic Acid Z-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -COOH
n = 5	N-Benzylloxycarbonyl-6-aminocaproic Acid Z-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOH
n = 6	N-Benzylloxycarbonyl-7-aminoheptanoic Acid Z-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -COOH
n = 7	N-Benzylloxycarbonyl-8-aminooctanoic Acid Z-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -COOH
n = 8	N-Benzylloxycarbonyl-9-aminononanoic Acid Z-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> -COOH
n = 9	N-Benzylloxycarbonyl-10-aminodecanoic Acid Z-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> -COOH
n = 10	N-Benzylloxycarbonyl-11-aminoundecanoic Acid Z-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> -COOH
n = 11	N-Benzylloxycarbonyl-12-aminododecanoic Acid Z-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> -COOH

これらのうち、n = 1であるZ-グリシンは、特に好適に用いることができる。

一般にPNAはDNAとのハイブリッドを期待しているので立体的にDNAに類似している誘導体化が望ましい。ω-アミノ酸をリンカーとして利用する場合、この点を考慮してZ-グリシンが最適である。

(実施例)

本願発明を実施例を用いてさらに詳細に説明するが、本願発明はこれら実施例に限定されるものではない。

(実施例1) t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンの製造

エチレンジアミン (90.2 g, 1.50 mol) のTHF溶液 (600 ml) に無水t-ブトキシカルボン酸 (32.7 g, 0.15 mol) のTHF溶液 (400 ml) を1時間かけて滴下し、さらに室温で15時間攪拌した。次に、上清を傾瀉し60℃で減圧蒸留した。残渣をTHFに再度溶解し、MgSO<sub>4</sub>で乾燥後濾過し、濾液を濃縮することにより、無色オイルとしてt-ブトキシカルボニルアミノエチルアミン、23.7 gを得た。収率は98%であった。

(実施例2) <sup>BOC</sup>PNA-OHの合成

t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンを、ブロモ酢酸エチルエステルと反応させて得られたethyl N-(2-Bocaminoethyl) glycinate (<sup>BOC</sup> PNA-OEt; 4.52 g, 18.4 mmol) のTHF溶液 (5 ml) に2規定水酸化ナトリウム水溶液 (10 ml, 20 mmol) を零度で滴下し、次いで反応液を室温で15時間攪拌した。これを直接陽イオン交換カラムクロマトグラフィー (DOWEX 50W×8, pyridinium form) に付し、水で溶出した。溶出液を減圧濃縮し、さらに真空乾燥することにより、白色粉末としてN-(2-Bocaminoethyl) glycine (<sup>BOC</sup> PNA-OH) 3.85 gを得た。収率は96%であった。

(実施例3) Z-gly-<sup>BOC</sup>PNA-OEtの合成

Benzyloxycarbonylglycine (Z-glycine; 6.75 g, 33 mmol) とethyl N-(2-aminoethyl)glycine (4.06 g, 17 mmol) のジメチルホルムアミド溶液 (DMF; 25 mL) にトリエチルアミン (TEA; 4.78 mL, 35 mmol) を加えて0℃で攪拌した。これに、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide

(EDCI; 6.79 g, 35 mmol) を加えて 0 °C で 2 時間、さらに室温で 15 時間撹拌した。反応液に酢酸エチル (EtOAc; 300 mL) を加え、これを 5 % 炭酸水素ナトリウム水溶液 (NaHCO<sub>3</sub>; 300 mL x 3) ・ 5 % クエン酸水溶液 (300 mL x 3) ・ 飽和食塩水溶液 (300 mL x 3) の順番に洗浄し、EtOAc 層を無水硫酸マグネシウム (MgSO<sub>4</sub>) で乾燥後濾過し、濾液を濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (3% MeOH/dichloromethane) に付し、Z-gly<sup>Boc</sup>PNA-OEt を無色オイルとして定量的に得た。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.4-7.2 (m, 5 H), 5.77 (brt) and 5.68 (brt) (1 H), 5.39 (brs) and 4.97 (brs) (1 H), 5.27 (s) and 5.09 (s) (2 H), 4.19 (m, 2 H), 4.07 (s) and 3.91 (s) (2 H), 4.01 (s, 2 H), 3.51 (brs) and 3.40 (brs) (2 H), 3.34 (brs) and 3.25 (brs) (2 H), 1.40 (s, 9 H), 1.26 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 169.71 and 169.31 (d), 169.20 and 168.79 (d), 156.11 and 155.85 (d), 136.39 and 136.32 (d), 128.44, 128.27, 127.98, 127.90, 79.80 and 79.37 (d), 66.86 and 66.77 (d), 62.05 and 61.58 (d), 49.43 and 48.73 (d), 48.52 and 48.05 (d), 42.49 and 42.34 (d), 38.48, 28.27, 14.03; FABMS *m/z* 438 [(M+H)<sup>+</sup>].

#### (実施例 4) Z-gly<sup>Boc</sup>PNA-OH の合成

Z-gly<sup>Boc</sup>PNA-OEt (4.0 g, 9.2 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (20 mL) に 1 規定水酸化リチウム水溶液 (20 mL, 20 mmol) を 0 °C で滴下し、反応液を 0 °C で 1 時間撹拌した。反応終了後、反応液を直接陽イオン交換カラムクロマトグラフィー (DOWEX 50W x 8, pyridinium form) に付し、MeOH で溶出した。溶出液を減圧濃縮し、さらに真空乾燥することにより、無色オイルとして Z-gly<sup>Boc</sup>PNA-OH (3.09 g, 82%) を得た。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.4-7.2 (m, 5 H), 6.84 (brt) and 6.73 (brt) (1 H), 5.03 (s, 2 H), 4.11 (brs) and 3.94 (brs) (2 H), 3.92 (brs) and 3.77 (brs) (2 H), 3.33 (brs) and 3.29 (brs)

(2 H), 3.09 (brs) and 3.02 (brs) (2 H), 1.37 (s, 9 H);  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO-*d*6)  $\delta$  171.07 and 170.02 (d), 169.39 and 169.07 (d), 156.42 (brd), 155.70 and 155.61 (d), 137.14, 128.35, 127.77, 127.67, 78.04 and 77.76 (d), 65.38, 48.99, 47.43 and 46.70 (d), 41.92 and 41.52 (d), 38.13 and 37.81 (d), 28.23; FABMS  $m/z$  410  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ ; HRMS (FAB $^+$ ) calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_2$ ,  $[(\text{M}+\text{H})^+]$  410.1849, observed 410.1926.

(実施例 5) Gly- $^{800}\text{PNA-OH}$ の合成

Z-gly- $^{800}\text{PNA-OH}$  (4.09 g, 10 mmol) の MeOH 溶液 (20 mL) にパラジウムカーボン (5% Pd/C; 100 mg) を加えて室温で接触水素還元を行った。反応終了後セライトろ過した。濾液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (5% MeOH/dichloromethane) に付し、白色粉末として Gly- $^{800}\text{PNA-OH}$  (2.08 g, 75%) を得た。 $^1\text{H}$  NMR (DMSO-*d*6)  $\delta$  3.72 (brs) and 3.69 (brs) (2 H), 3.58 (brs) and 3.54 (brs) (2 H), 3.3-3.2 (m, 2 H), 3.06 (brs) and 2.94 (brs) (2 H); FABMS  $m/z$  276  $[(\text{M}+\text{H})^+]$ .

(実施例 6) Dabcyl-Gly- $^{800}\text{PNA-OH}$ の合成

Gly- $^{800}\text{PNA-OH}$  (100 mg, 0.39 mmole) の dimethylformamide 溶液 (10 mL) に dabcyl *N*-hydroxysuccinimide ester (145 mg, 0.40 mmole) と triethylamine (60  $\mu\text{L}$ , 0.45 mmole) を順番に加え、室温で 15 時間攪拌した。反応終了後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (0 - 4% MeOH/dichloromethane) に付し、赤褐色粉末として Dabcyl-Gly- $^{800}\text{PNA-OH}$  (184 mg, 90%) を得た。 $^1\text{H}$  NMR (DMSO-*d*6)  $\delta$  8.18 (d,  $J = 7$  Hz, 2 H), 7.91 (d,  $J = 7$  Hz, 2 H), 7.88 (d,  $J = 7$  Hz, 2 H), 6.77 (d,  $J = 7$  Hz, 2 H), 5.76 (s) and 5.30 (s) (2 H), 4.22 (brs) and 4.05 (brs) (2 H), 3.73 (brs) and 3.49 (brs) (2 H), 3.47 (brs) and 3.29 (brs) (2

H), 1.26 (s, 9 H); FABMS  $m/z$  527  $[(M+H)^+]$ .

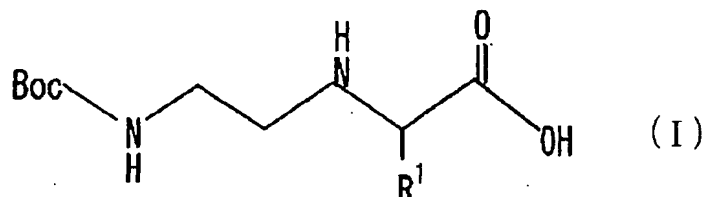
#### 産業上の利用可能性

本発明の製造方法は、煩雑な操作を要さないとともに高収率で  $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンおよび Boc 型アミノ酸誘導体を合成でき、さらに大量生産への応用が容易である。したがって、 $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンおよび Boc 型アミノ酸誘導体の工業的合成に好適に用いることができ、Boc 型モノマーユニットを使用した PNA 合成法の確立および機能性分子を導入した Boc 型アミノ酸誘導体の工業的合成、およびそれを用いた PNA モノマーユニットの工業的合成等の産業において利用することができる。



## 請求の範囲

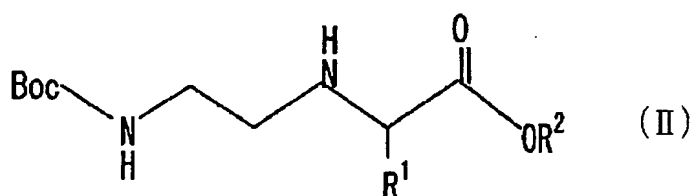
## 1. 下記一般式 (I)



(式中、 $\text{R}^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)

で示されるアミノ酸誘導体の製造方法であって、

一般式 (II)



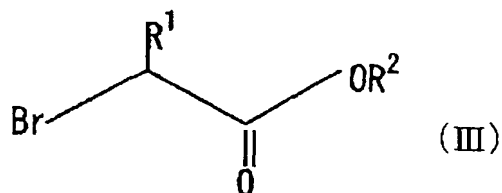
(式中、 $\text{R}^1$ は前記と同様の意味を有し、 $\text{R}^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)で示される化合物を加水分解することにより一般式 (I) で示されるアミノ酸誘導体を得る工程を含む、前記製造方法。

2. 一般式 (II) で示される化合物の加水分解が、水酸化アルカリ金属塩水溶液によってなされることを特徴とする、請求項1に記載の製造方法。

3. カウンターカチオンとしてピリジニウムイオンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィーにてアルカリ金属イオンを除去する工程をさらに含むことを特徴とする、請求項2に記載の製造方法。

4. アルカリ金属が、リチウム、ナトリウムまたはカリウムであることを特徴する、請求項2または3に記載の製造方法。

5. 一般式 (II) で示される化合物が、 $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンと下記一般式 (III)



(式中、 $\text{R}^1$ および $\text{R}^2$ は前記と同様の意味を有する。)

で示される化合物との反応により得られたものであることを特徴とする、請求項 1～4 のいずれかに記載の製造方法。

6.  $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンが、エチレンジアミンと無水 $\alpha$ -ブトキシカルボン酸との反応により得られたものであることを特徴とする、請求項 5 に記載の製造方法。

7. エチレンジアミンと無水 $\alpha$ -ブトキシカルボン酸との反応が、テトラヒドロフラン中でなされることを特徴とする、請求項 6 に記載の製造方法。

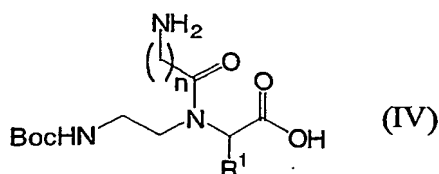
8. 一般式 (I)、(II) および (III) で示される化合物において、 $\text{R}^1$  が水素原子であり、 $\text{R}^2$  がエチル基である請求項 1～7 のいずれかに記載の製造方法。

9. 一般式 (I) で示されるアミノ酸誘導体が Boc 型 PNA モノマーユニット合成のための塩基導入基体であることを特徴とする、請求項 1～8 のいずれかに記載の製造方法。

10. 請求項 1～9 のいずれかに記載の製造方法の、Boc 型 PNA モノマーユニットの製造における使用。

11.  $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンの製造方法であって、エチレンジアミンと無水 $\alpha$ -ブトキシカルボン酸とをテトラヒドロフラン中で反応させることを特徴とする、前記製造方法。

12. 一般式 (IV)

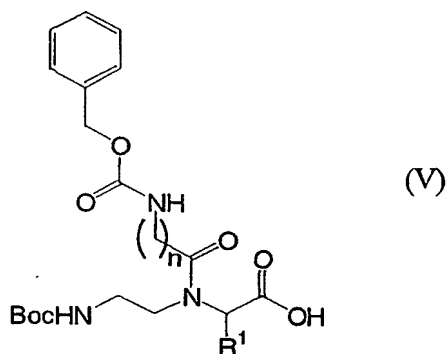


(式中、 $\text{R}^1$ は水素原子または炭素数 1～5 の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキ

ル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

で示される、アミノ酸誘導体。

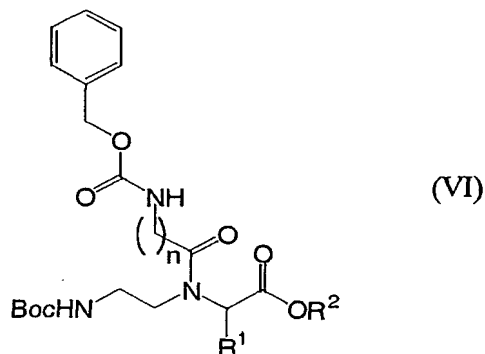
### 13. 一般式 (V)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

で示される、請求項12に記載の一般式 (IV) で示されるアミノ酸誘導体の中間体。

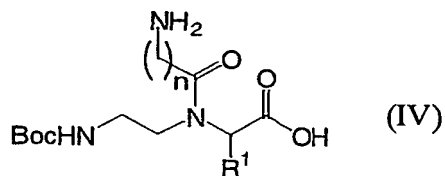
### 14. 一般式 (VI)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

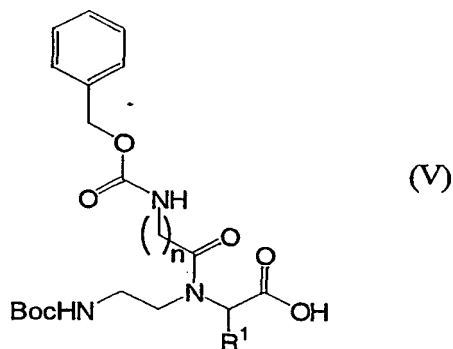
で示される、請求項12に記載の一般式 (IV) で示されるアミノ酸誘導体の中間体。

### 15. 下記一般式 (IV)



(式中、 $R^1$ 水素原子または炭素数 1～5 の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は 1～11 の整数を表す。)

で示されるアミノ酸誘導体の製造方法であって、一般式 (V)

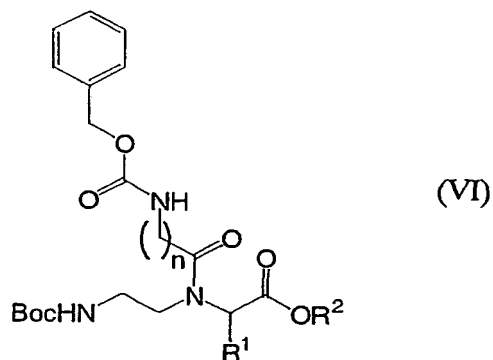


(式中、 $R^1$ および  $n$  は前記と同様の意味を有する。)

で示される化合物を還元することによって、一般式 (IV) で示される化合物を得る工程を含む、前記製造方法。

16. 一般式 (V) で示される化合物の還元が、触媒としてパラジウムカーボンを含むメタノール溶液中で行われることを特徴とする、請求項 15 に記載の製造方法。

17. 一般式 (VI)



(式中、 $R^1$ および  $n$  は前記と同様の意味を有し、 $R^2$  は炭素数 1～4 の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)

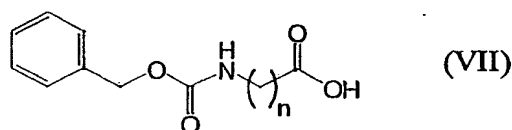
で示される化合物を加水分解することによって、式(V)で示される化合物を得る工程をさらに含むことを特徴とする、請求項16に記載の製造方法。

18. 一般式(VI)で示される化合物の加水分解が、水酸化アルカリ金属塩水溶液によってなされることを特徴とする、請求項17に記載の製造方法。

19. カウンターカチオンとしてピリジニウムイオンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィーにてアルカリ金属イオンを除去する工程をさらに含むことを特徴とする、請求項18に記載の製造方法。

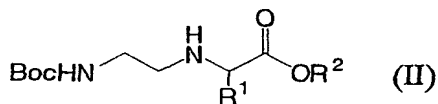
20. アルカリ金属が、リチウム、ナトリウムまたはカリウムであることを特徴する、請求項18または19に記載の製造方法。

21. 一般式(VI)で示される化合物が、下記一般式(VII)



(式中、nは前記と同様の意味を有する。)

で示されるベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸および一般式(II)



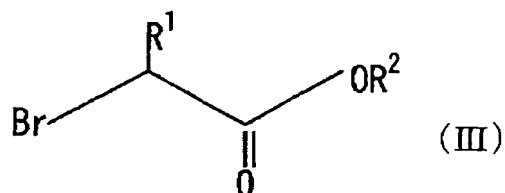
(式中、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は前記と同様の意味を有する。)

で示される化合物との反応により得られたものであることを特徴とする、請求項17～20のいずれかに記載の製造方法。

22. 一般式(II)および(IV)～(VII)のいずれかで示される化合物において、R<sup>1</sup>が水素原子であり、R<sup>2</sup>がエチル基であり、nが1であることを特徴とする、請求項15～21のいずれかに記載の製造方法。

23. 一般式(IV)で示されるアミノ酸誘導体が、Boc型PNAモノマーユニット合成のための塩基導入用基体であることを特徴とする、請求項15～22のいずれかに記載の製造方法。

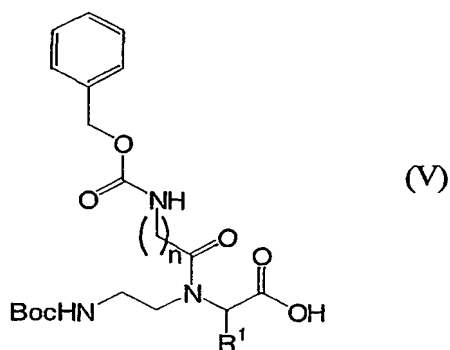
24. 一般式(II)で示される化合物が、エチレンジアミンから製造された $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンと一般式(III)



(式中、R<sup>1</sup>は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、R<sup>2</sup>は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、nは1～11のいずれかの整数を意味する。)

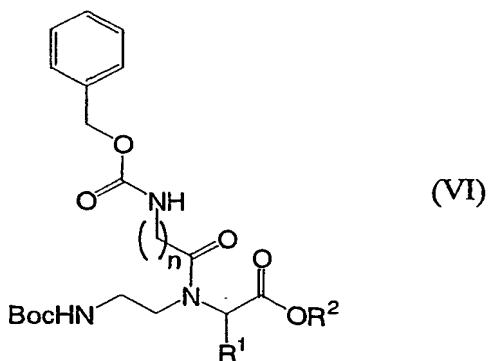
で示される化合物との反応により得られたものであることを特徴とする、請求項21～23のいずれかに記載の製造方法。

#### 25. 一般式 (V)



(式中、R<sup>1</sup>は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、R<sup>2</sup>は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、nは1～11のいずれかの整数を意味する。)

で示される化合物の製造方法であって、一般式 (VI)

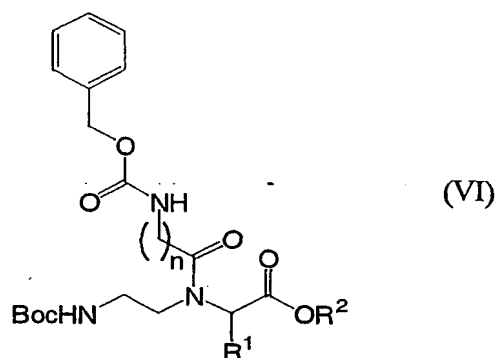


(式中、R<sup>1</sup>は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキ

ル基、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

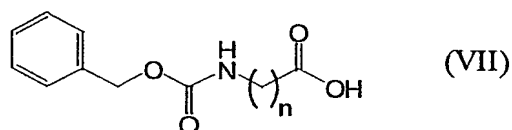
で示される化合物を加水分解することによって、一般式(V)で示される化合物を得る工程を含むことを特徴とする、前記製造方法。

## 26. 一般式(VI)



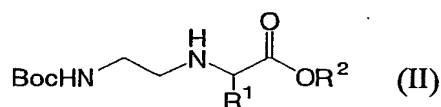
(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

で示される化合物の製造方法であって、一般式(VII)



(式中、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

で示されるベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸および一般式(II)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)

で示される化合物との反応によって、一般式(VI)で示される化合物を得る工程を含むことを特徴とする、前記製造方法。

## 27. 請求項12に記載の、一般式(IV)で示される化合物の、Boc型PN

Aモノマーユニットの製造における使用。

28. 請求項13に記載の、一般式(V)で示される化合物の、Boc型PNAモノマーユニットの製造における使用。

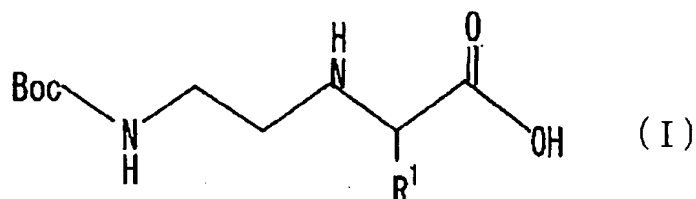
29. 請求項14に記載の、一般式(VI)で示される化合物の、Boc型PNAモノマーユニットの製造における使用。



## 補正書の請求の範囲

[2002年2月18日(18.02.02)国際事務局受理：  
出願当初の請求の範囲1-27は補正された；出願当初の請求の範囲  
28, 29は取り下げられた。(7頁)]

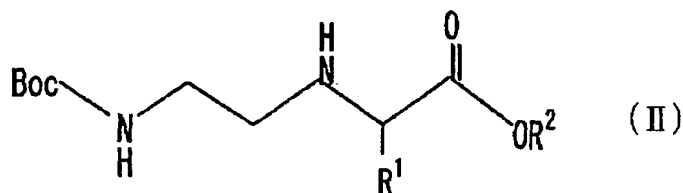
## 1. 下記一般式 (I)



(式中、R<sup>1</sup>は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)

で示されるアミノ酸誘導体の製造方法であって、

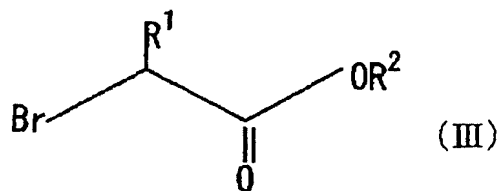
## 一般式 (II)



(式中、R<sup>1</sup>は前記と同様の意味を有し、R<sup>2</sup>は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)で示される化合物の水酸化アルカリ金属塩水溶液による加水分解、およびカウンターカチオンとしてピリジニウムイオンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィーによるアルカリ金属イオンの除去によって、一般式 (I) で示されるアミノ酸誘導体を得る工程を含む、前記製造方法。

2. アルカリ金属が、リチウム、ナトリウムまたはカリウムであることを特徴する、請求項1に記載の製造方法。

3. 一般式 (II) で示される化合物が、t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンと下記一般式 (III) である。



(式中、 $R^1$ および $R^2$ は前記と同様の意味を有する。)

で示される化合物との反応により得られたものであることを特徴とする、請求項 1～2 のいずれかに記載の製造方法。

4.  $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンが、エチレンジアミンと無水 $\alpha$ -ブトキシカルボン酸との反応により得られたものであることを特徴とする、請求項 3 に記載の製造方法。

5. エチレンジアミンと無水 $\alpha$ -ブトキシカルボン酸との反応が、テトラヒドロフラン中でなされることを特徴とする、請求項 4 に記載の製造方法。

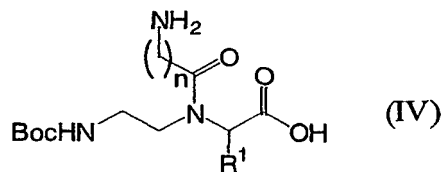
6. 一般式 (I)、(II) および (III) で示される化合物において、 $R^1$ が水素原子であり、 $R^2$ がエチル基である請求項 1～5 のいずれかに記載の製造方法。

7. 一般式 (I) で示されるアミノ酸誘導体が Boc 型 PNA モノマーユニット合成のための塩基導入基体であることを特徴とする、請求項 1～6 のいずれかに記載の製造方法。

8. 請求項 1～7 のいずれかに記載の製造方法の、Boc 型 PNA モノマーユニットの製造における使用。

9.  $\alpha$ -ブトキシカルボニルアミノエチルアミンの製造方法であって、エチレンジアミンと無水 $\alpha$ -ブトキシカルボン酸とをテトラヒドロフラン中で反応させることを特徴とする、前記製造方法。

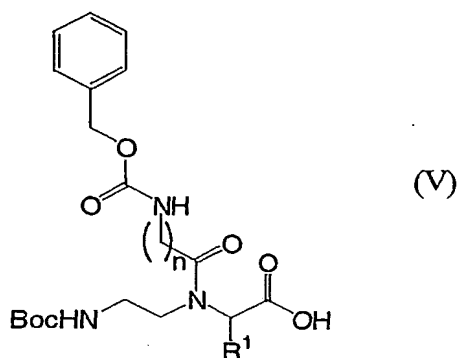
10. 一般式 (IV)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数 1～5 の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は 1～11 のいずれかの整数を意味する。)

で示される、アミノ酸誘導体。

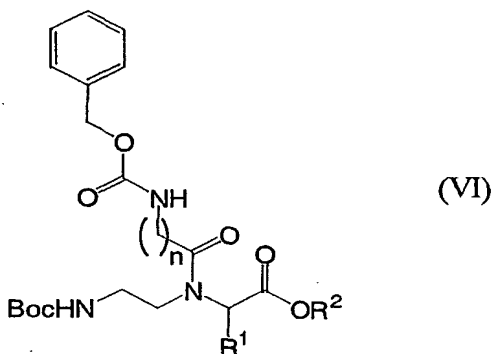
11. 一般式 (V)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

で示される、請求項10に記載の一般式(IV)で示されるアミノ酸誘導体の中間体。

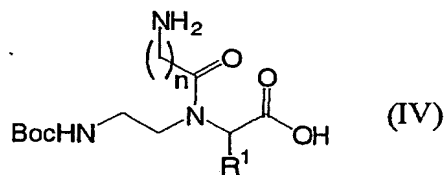
## 12. 一般式(VI)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

で示される、請求項10に記載の一般式(IV)で示されるアミノ酸誘導体の中間体。

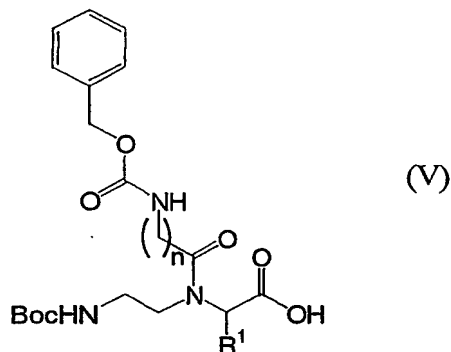
## 13. 下記一般式(IV)



(式中、 $R^1$ 水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル

基、 $n$ は1～11の整数を表す。)

で示されるアミノ酸誘導体の製造方法であって、一般式 (V)

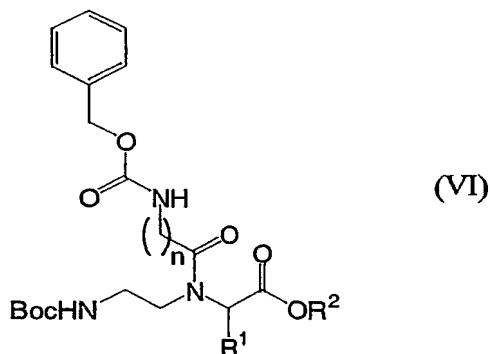


(式中、 $R^1$ および $n$ は前記と同様の意味を有する。)

で示される化合物を還元することによって、一般式 (IV) で示される化合物を得る工程を含む、前記製造方法。

14. 一般式 (V) で示される化合物の還元が、触媒としてパラジウムカーボンを含むメタノール溶液中で行われることを特徴とする、請求項13に記載の製造方法。

15. 一般式 (VI)



(式中、 $R^1$ および $n$ は前記と同様の意味を有し、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)

で示される化合物を加水分解することによって、式 (V) で示される化合物を得る工程をさらに含むことを特徴とする、請求項14に記載の製造方法。

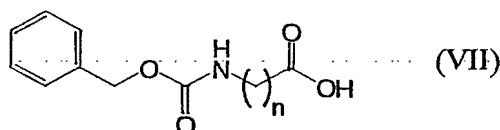
16. 一般式 (VI) で示される化合物の加水分解が、水酸化アルカリ金属塩水

溶液によってなされることを特徴とする、請求項 15 に記載の製造方法。

17. カウンターカチオンとしてピリジニウムイオンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィーにてアルカリ金属イオンを除去する工程をさらに含むことを特徴とする、請求項 16 に記載の製造方法。

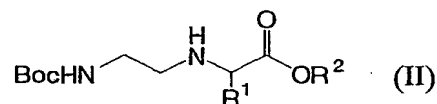
18. アルカリ金属が、リチウム、ナトリウムまたはカリウムであることを特徴する、請求項 16 または 17 に記載の製造方法。

19. 一般式 (VI) で示される化合物が、下記一般式 (VII)



(式中、n は前記と同様の意味を有する。)

で示されるベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸および一般式 (II)



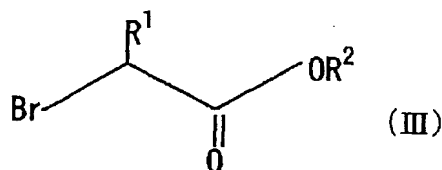
(式中、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は前記と同様の意味を有する。)

で示される化合物との反応により得られたものであることを特徴とする、請求項 15 ~ 18 のいずれかに記載の製造方法。

20. 一般式 (II) および (IV) ~ (VII) のいずれかで示される化合物において、R<sup>1</sup>が水素原子であり、R<sup>2</sup>がエチル基であり、n が 1 であることを特徴とする、請求項 13 ~ 19 のいずれかに記載の製造方法。

21. 一般式 (IV) で示されるアミノ酸誘導体が、Boc型PNAモノマーユニット合成のための塩基導入用基体であることを特徴とする、請求項 13 ~ 20 のいずれかに記載の製造方法。

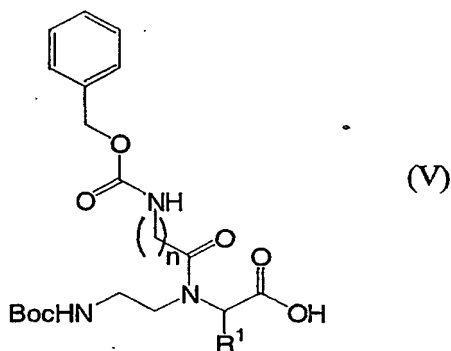
22. 一般式 (II) で示される化合物が、エチレンジアミンから製造された t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンと一般式 (III)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

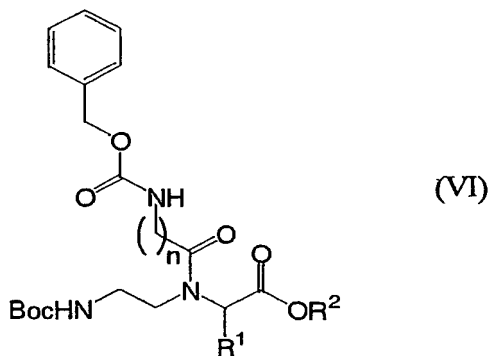
で示される化合物との反応により得られたものであることを特徴とする、請求項19～21のいずれかに記載の製造方法。

### 23. 一般式(V)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

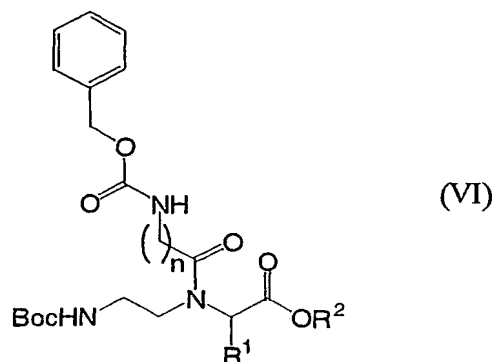
で示される化合物の製造方法であって、一般式(VI)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

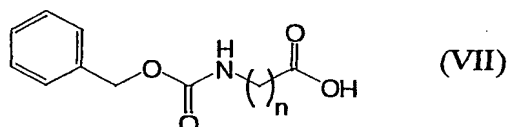
で示される化合物を加水分解することによって、一般式(V)で示される化合物を得る工程を含むことを特徴とする、前記製造方法。

## 24. 一般式 (VI)



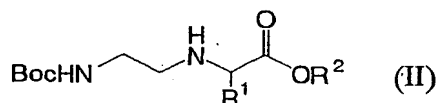
(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

で示される化合物の製造方法であって、一般式 (VII)



(式中、 $n$ は1～11のいずれかの整数を意味する。)

で示されるベンジルオキシカルボニル- $\omega$ -アミノ酸および一般式 (II)



(式中、 $R^1$ は水素原子または炭素数1～5の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、 $R^2$ は炭素数1～4の直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基を意味する。)

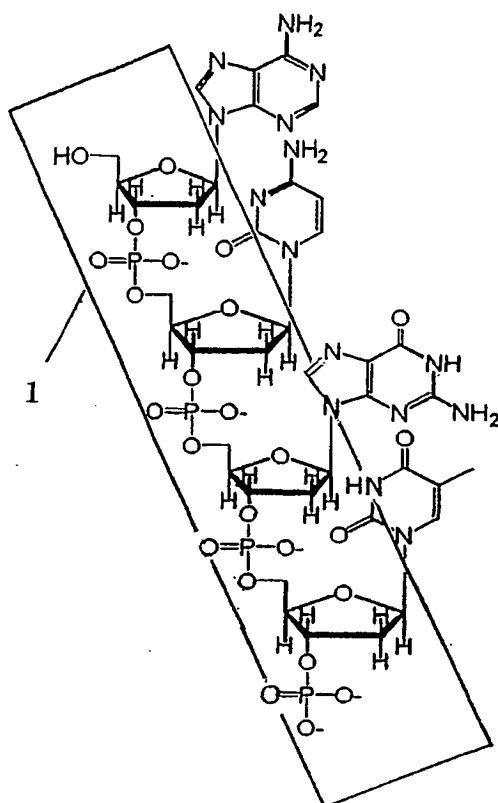
で示される化合物との反応によって、一般式 (VI) で示される化合物を得る工程を含むことを特徴とする、前記製造方法。

25. 請求項10に記載の、一般式 (IV) で示される化合物の、Boc型PNAモノマーユニットの製造における使用。

26. 請求項11に記載の、一般式 (V) で示される化合物の、Boc型PNAモノマーユニットの製造における使用。

27. 請求項12に記載の、一般式 (VI) で示される化合物の、Boc型PNAモノマーユニットの製造における使用。

Fig. 1-1



天然の核酸 (DNA)

Fig. 1-2

ペプチド核酸(PNA)

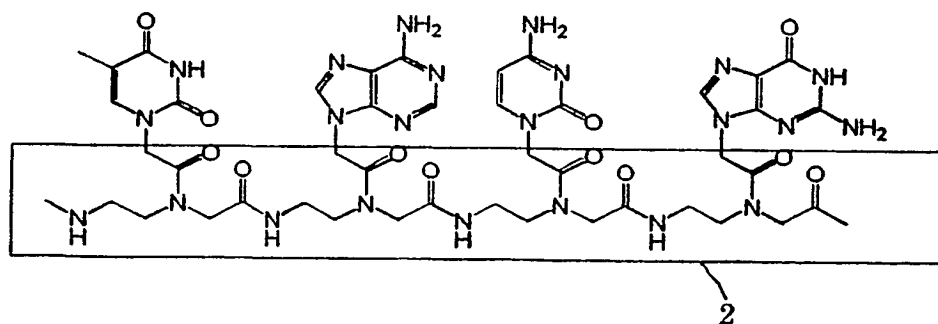
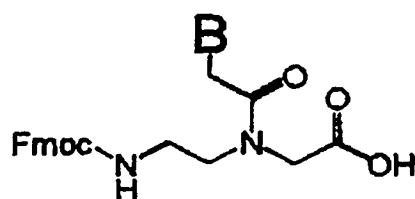
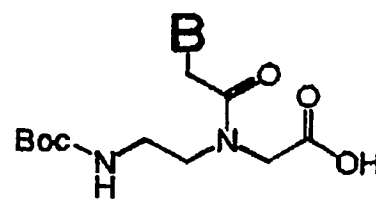


Fig. 2



Fmoc型PNAモノマーユニット



Boc型PNAモノマーユニット



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/07696

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C07C271/20, 269/06, C07K14/00,  
B01J39/04, 39/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C07C271/20, 269/06, C07K14/00,  
B01J39/04, 39/06

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN) , CASREACT (STN) , REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99/31121 A2 (PEPTOR LTD.) , 24 June, 1999 (24.06.99) , & EP 1037904 A2	12-29
A	US 5595741 A (Boehringer Mannheim GmbH) , 21 January, 1997 (21.01.97) , & JP 4-500361 A & WO 90/15798 A1 & EP 429611 A1	6, 7, 11
X A	Roeske, Roger W. et al., Selective reduction of the amide carbonyl group in dipeptides by borane, J. Org. Chem., 1976, Vol.41 No.7, pages 1260-1261	1 2-10
A	WO 97/30053 A1 (BIOMEASURE INCORPORATED) , 21 August, 1997 (21.08.97) , & JP 2001-500838 A & EP 904274 A1	1-29

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not  
considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing  
date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is  
cited to establish the publication date of another citation or other  
special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other  
means

"P" document published prior to the international filing date but later  
than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or  
priority date and not in conflict with the application but cited to  
understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered novel or cannot be considered to involve an inventive  
step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered to involve an inventive step when the document is  
combined with one or more other such documents, such  
combination being obvious to a person skilled in the art

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
10 December, 2001 (10.12.01)

Date of mailing of the international search report  
18 December, 2001 (18.12.01)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/07696

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The inventions set forth in Claim are divided into the following three groups:

- (1) a group of inventions of claims 1-10 relating to processes for the production of amino acid derivatives of the general formula (I),
- (2) the invention of claim 11 relating to a process for the production of t-butoxycarbonylaminoethylamine, and
- (3) a group of inventions of claims 12-26 relating to amino acid derivatives of the general formula (IV), processes for the production of the derivatives, intermediates for the productions thereof, processes for the production of the intermediates, or use of the amino acid derivatives (IV) or the intermediates.

However, there is no technical relationship among the three groups involving one or more common special technical features, and therefore the three groups of inventions are not considered as relating to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

Accordingly, the number of inventions claimed in this international application is 3.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C07C271/20, 269/06, C07K14/00,  
B01J39/04, 39/06

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C07C271/20, 269/06, C07K14/00,  
B01J39/04, 39/06

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), CASREACT (STN), REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 99/31121 A2(PEPTOR LTD.) 24. 6月. 1999 (24. 06. 99) &EP 1037904 A2	12-29
A	US 5595741 A(Boehringer Mannheim GmbH) 21. 1月. 1997 (21. 01. 97) &JP 4-500361 A &WO 90/15798 A1 &EP 429611 A1	6, 7, 11

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10. 12. 01

国際調査報告の発送日

18.12.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

本堂 裕司

印

4H

9049

電話番号 03-3581-1101 内線 3443

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	Roeske, Roger W. et al., Selective reduction of the amide carbonyl group in dipeptides by borane, J. Org. Chem., 1976, Vol. 41 No. 7, p. 1260-1261	1 2-10
A	WO 97/30053 A1 (BIOMEASURE INCORPORATED) 21. 8月. 1997 (21. 08. 97) &JP 2001-500838 A &EP 904274 A1	1-29

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

請求の範囲に記載された発明はそれぞれ、

- ①請求の範囲 1 ~ 10 一般式 (I) で示されるアミノ酸誘導体の製造方法
  - ②請求の範囲 11 t-ブトキシカルボニルアミノエチルアミンの製造方法
  - ③請求の範囲 12 ~ 26 一般式 (IV) で示されるアミノ酸誘導体、その製造方法、その製造中間体、該製造中間体の製造方法、前記化合物群の使用
- の群に区分され、それぞれの群の間は共通する特別な技術的特徴を含む関係にないから、単一の一般的発明概念を形成するように連関しているものとは認められない。  
したがって、請求の範囲に記載されている国際出願の発明の数は3である。

1. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☒ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKewed/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**